

**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija**

**Maja Rajačić**

6899/PT

**UTJECAJ STUPNJA ZRELOSTI PLODA MASLINE NA SASTAV  
DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA IZ MIJEŠANIH SORTI  
MASLINA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Modul: Procesi prerade maslina i kontrola kvalitete proizvoda**

**Mentor:** prof.dr.sc. *Dubravka Škevin*

**Zagreb, 2018.**

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija  
Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju ulja i masti

**UTJECAJ STUPNJA ZRELOSTI PLODA MASLINE NA SASTAV  
DJEVIČANSKOG MASLINOVOG ULJA IZ MIJEŠANIH SORTI  
MASLINA**

*Maja Rajačić 0058205042*

**Sažetak:** Djevičansko maslinovo ulje tradicionalno se koristi u mediteranskoj kuhinji i ulje je koje sadrži visoku koncentraciju antioksidanasa te ima pozitivan učinak na ljudsko zdravlje. Prirodni antioksidansi u djevičanskom maslinovom ulju su fenolni spojevi koji štite maslinovo ulje od oksidacijskih promjena te su odgovorni za specifična senzorska svojstva djevičanskog maslinovog ulja. Cilj ovog rada bio je odrediti utječe li zrelost ploda maslina na osnovne parametre kvalitete i na udjel polifenolnih spojeva. Osnovni parametri kvalitete, udio slobodnih masnih kiselina, peroksidni broj i K-brojevi, pokazuju stupanj hidrolitičkog ili oksidacijskog kvarenja u ulju te ne pokazuju značajno odstupanje u ovisnosti o indeksu zrelosti. U literaturi stoji da na udjel polifenola utječu sorta, klimatski uvjeti, uvjeti uzgoja, proizvodnje i skladištenja, a u ovom radu se potvrdio i značajan utjecaj stupnja zrelosti ploda.

**Ključne riječi:** djevičansko maslinovo ulje, indeks zrelosti, osnovni parametri kvalitete, polifenoli

**Rad sadrži:** 31 stranica, 9 slika, 5 tablica, 33 literaturnih navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u:** Knjižnica Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** prof.dr.sc. Dubravka Škevin

**Rad predan:** lipanj, 2018

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
Undergraduate studies Food Technology  
Department of Food Engineering  
Laboratory for Oil and Fat Technology

### INFLUENCE OF MATURITY INDEX ON COMPOSITION OF VIRGIN OLIVE OIL FROM MIXED VARIETY OF OLIVES

*Maja Rajačić, 0058205042*

**Summary:** Virgin olive oil is traditionally used in Mediterranean cuisine and is an oil that contains a high concentration of antioxidants and has a positive effect on human health. Natural antioxidants in virgin olive oil are phenolic compounds that protect olive oil from oxidative changes and are responsible for the specific sensory properties of virgin olive oil. The aim of this study was to determine the effect of maturity index on the basic quality parameters and concentration of polyphenolic compounds. The basic quality parameters, free fatty acids, the peroxide number, and the K-numbers show the degree of hydrolytic or oxidative degradation in the oil and do not show significant deviation depending on the maturity index. Many studies confirm that concentration of polyphenols depends on the variety, climatic conditions, conditions of breeding, production and storage and this study confirms the significant influence of the degree of fruit maturity.

**Keywords:** virgin olive oil, maturity index, basic quality parameters, polyphenols

**Thesis contains:** 31 pages, 9 figures, 5 tables, 33 references

**Original in:** Croatian

**Final work in printed and electronic (pdf format) version is deposited in:** Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb

**Mentor:** PhD. Dubravka Škevin, Professor

**Thesis delivered:** June, 2018

# Sadržaj

1. UVOD .....	1
2. TEORIJSKI DIO .....	3
2.1. Sorte maslina .....	4
2.1.1. Oblica .....	4
2.1.2. Lastovka .....	4
2.1.3. Leccino .....	5
2.1.4. Pendolino.....	5
2.3. Indeks zrelosti .....	5
2.4. Proizvodnja maslinovog ulja.....	6
2.4.1. Berba .....	6
2.4.2. Priprema ploda za procese separacije ulja.....	7
2.4.3. Izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta .....	8
2.4.4. Odvajanje ulja od biljne vegetabilne vode .....	9
2.4.5. Bistrenje ulja .....	9
2.4.6. Skladištenje ulja .....	10
2.5. Kemijski sastav maslinovog ulja .....	10
2.6. Kvaliteta maslinovog ulja .....	12
3. EKSPERIMENTALNI DIO .....	14
3.1. Materijali.....	15
3.2. Metode .....	15
3.2.1. Određivanje indeksa zrelosti .....	15
3.2.2. Određivanje udjela vode u plodovima maslina .....	16
3.2.3. Određivanje udjela ulja u plodovima maslina.....	17
3.2.4. Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina.....	17
3.2.5. Određivanje peroksidnog broja .....	18
3.2.6. Spektrofotometrijska analiza u ultraljubičastom području .....	18
3.2.7. Određivanje polifenola HPLC metodom uz UV detekciju.....	19
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	21
5. ZAKLJUČAK .....	26
6. LITERATURA .....	28

## **1. UVOD**

Maslina je suptropska zimzelena biljka, plod drveta *Olea europaea* koja raste u mediteranskom području. Glavna karakteristika ove biljke je ulje bogato antioksidansima koje se nalazi u plodu masline. Ulje se koristi u prehrani kao dodatak jelu, za prženje, začinjavanje jela te u medicinske svrhe. Djevičansko maslinovo ulje utječe pozitivno na ljudsko zdravlje zbog visokog udjela polifenola koji su prirodni antioksidansi u ulju i odgovorni su za njegova specifična senzorska svojstva. Osim polifenola sadrži i oleinsku masnu kiselinu koja umanjuje rizik od krvožilnih bolesti te esencijalne masne kiseline koje je potrebno hranom unijeti u organizam. Prehrana bogata oleinskom masnom kiselinom omogućuje kontrolu nivoa glukoze u krvi, smanjuje udjel VLDL i triacilglicerola te povećava nivo HDL. Brojna istraživanja su dokazala da na polifenole utječe sorta, klimatski uvjeti tijekom dozrijevanja plodova, indeksu zrelosti plodova iz kojih se proizvodi ulje te načinu ekstrakcije ulja.

Cilj ovog rada bio je odrediti utječe li zrelost ploda maslina na osnovne parametre kvalitete i na udjel polifenolnih spojeva.

## **2.TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Sorte maslina

### 2.1.1. Oblica

Oblica (slika 1) je najzastupljenija i autohtona (Strikić i sur., 2007) hrvatska sorta koja čini oko 60 % ukupnog sortimenta masline. Pripada u mješovite sorte maslina. Iz Oblice može se proizvoditi ulje jer u plodu ima do 21% ulja (Kovačević i Perica, 1994), a može se i konzervirati zbog krupnog ploda koji može biti težak do 14 g (Strikić, 2005) i čvrste konzistencije mesa. Osim krupnog ploda, ima visoku toleranciju na sušu, dobro uspijeva na siromašnim i škrtim područjima te podnosi jake udare vjetra što je razlog zašto uspijeva na području Hrvatske. Dobri oprašivači Oblice su sorte Lastovka Drobница, Levantinka od hrvatskih sorti te Leccino, Pendolino od uvezenih sorti.



**Slika 1.** Oblica (vlastita fotografija)

### 2.1.2. Lastovka

Lastovka (slika 2) je autohtona hrvatska sorta koja potječe s otoka Korčule. Uzgoj sorte ograničen je na područje srednje i južne Dalmacije, a najveći udio uzgoja te sorte je na području mjesta Vela Luka na otoku Korčuli. Stablo Lastovke je bujno i okruglasto, a plod je eliptično izdužen, srednje krupan, prosječne mase od 2,75 g (Škarice i sur., 1996). Samooplodna je sorta koja se koristi isključivo za proizvodnju ulja te odlikuje pikantnim, gorkim i visokokvalitetnim uljem bogatim prirodnim antioksidansima.



**Slika 2.** Lastovka (Udruga maslinara Vela Luka, 2002)



### 2.1.3. Leccino

Leccino (slika 3) je talijanska sorta podrijetlom iz provincije Toskane. U Hrvatskoj je najzastupljenija u Istri. Stablo Leccina ima gustu, razgranatu krošnju s dugim granama i okruglastog rasta. Plodovi su elipsoidnog oblika, prosječne težine 2-3 grama koji tijekom zriobe dobiva crnu boju. Udio ulja u plodu može dostići do 20 %. Autosterilna je sorta, ranog dozrijevanja (rujan, listopad) te otporna na niske temperature. Kao najbolji oprašivač pokazala se sorta Pendolino. Ulje je visoke kakvoće, a plod se može koristiti i za proizvodnju stolnih maslina (Pribetić, 2006).



**Slika 3.** Leccino (Vivaipacini, 2011)

### 2.1.4. Pendolino

Pendolino (slika 4) je također talijanska sorta porijeklom iz Toskane. Stablo ima gustu krošnju sa sitnim, izduženim plodovima srednje težine te u prosjeku sadrže 8 % ulja (Pribetić, 2006). Sorta Pendolino smatra se dobrim oprašivačem za sorte maslina Leccino i Frantoio.



**Slika 4.** Pendolino (Luigigozzo, 2009)

## 2.3. Indeks zrelosti

Berbu bi trebalo provesti u trenutku kad se većina plodova nalazi u optimalnom stupnju zrelosti no to nije uvijek moguće zbog raznih okolnosti koje utječu na berbu, poput: vremenskih neprilika, nedostatka radne snage, nemogućnosti brze prerade zbog zauzetosti uljare ili potrebe za ranijom berbom da se izbjegne napad maslinove muhe (Kiritsakis, 1990). Indeks zrelosti je važan čimbenik koji utječe na kemijski sastav i kvalitetu ploda. Najčešći način određivanja indeksa zrelosti i optimalan trenutak berbe povezan je s pigmentacijom ploda na vanjskom dijelu kože i pulpom ploda. Mnogi maslinari u Istri započinju berbu kada je 1/3 crne, a 2/3 zelene boje odnosno neki plodovi su skroz crni, neki su prošarani, a neki su još zeleni. To se događa najranije krajem 9. mjeseca, ali ovisi o sorti, jer neke sorte dozrijevaju prije drugih. Neki maslinari stupanj zrelosti određuju prema konzistenciji

ploda. Maslina se prereže, pogleda se da li se dobro odvaja od koštice, i ukoliko je tako započinje se berba.

## 2.4. Proizvodnja maslinovog ulja

Proizvodnja djevičanskog maslinovog ulja (slika 5) uključuje:

1. Pripremu ploda za procese separacije ulja
2. Izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta
3. Odvajanje ulja od biljne (vegetabilne) vode
4. Bistrenje
5. Skladištenje



**Slika 5.** Proizvodnja maslinovog ulja, uljara Kožino (vlastita fotografija)

### 2.4.1. Berba

Berba maslina provodi se na različite načine, ovisno o tehnici uzgoja maslina, sorti, starosti nasada, veličini i obliku stabla, te konfiguraciji terena. Na području Istre i Dalmacije u maslinicima još uvijek se najviše primjenjuje ručni način berbe maslina. Optimalan trenutak berbe maslina povezan je za pigmentaciju plodova. Berbu maslina treba započeti kada je trećina plodova crne boje, a dvije trećine zelene boje. U svrhu ubrzanja i veće učinkovitosti ručne berbe upotrebljavaju se češljevi i nazubljene škare. Učinak ovakve berbe u odnosu na ručnu (bez češljeva) može se povećati za oko 30% (Koprivnjak, 2006). Osim ručne berbe, berba maslina može biti mehanizirana. Koriste se razni strojevi kao što su razni tresači maslina, uređaji za trešnju s prihvatnim platnom, kombajn za berbu plodova maslina...

### **2.4.2. Priprema ploda za procese separacije ulja**

Priprema ploda za procese separacije ulja obuhvaća procese pranja i čišćenja plodova, mljevenje i miješenje.

Pranjem i čišćenjem plodova uklanjaju se nečistoće (grančice, lišće, zemlja, kamenje itd.) koje mogu negativno utjecati na kakvoću ulja, oštećivati dijelove strojeva, te umanjiti efikasnost ekstrakcije. Veće grančice uklanjaju se usipavanjem maslina u prijemni koš kroz rešetku, lišće i sitnije grančice uklanjaju se strujom zraka, a ostaci zemlje i druge tvari s površine ploda peru se kratkotrajnim namakanjem i konačnim ispiranjem vodom. (Koprivnjak, 2006).

Nakon uklanjanja nečistoća za dobivanje homogene mase potrebno je drobiti i usitniti plod masline jer se na taj način oslobađaju kapljice ulja iz staničnih vakuola. Homogena masa je zapravo maslinovo tijelo sastavljeno od biljne vode, ulja i komine (čvrstog dijela).

Cilj mljevenja je provesti mljevenje tako da se iz pulpe oslobodi što više ulja, a da se ulje što manje rasprši u sitne kapljice kako bi se spriječila pojava emulzija. Jer ukoliko dođe do raspršivanja u sitne kapljice, doći će do smanjenja privlačnih sila između kapljica ulja pa tako i manjeg izvajanja ulja iz samljevene mase (Koprivnjak, 2006).

Osim razaranja pulpe ploda razaraju se i stanične strukture ostalih dijelova ploda masline (kožica i sjemenka) te u kontakt dolazi ulje i specifične tvari koje se nalaze u kožici (klorofili, voskovi), sjemenci i pulpi (enzimi, tokoferoli).

Mljevenje se obavlja uz pomoć dva tipa mlinova:

1. Kameni mlinovi (tradicionalan način),
2. Metalni mlinovi (mlin čekičar, s diskovima, s konusima i dr.).

Ako se u procesu mljevenja koriste metalni mlinovi maslinovo tijesto mora ići na miješenje dok korištenjem kamenih mlinova dobiveno maslinovo tijesto je spremno za proces separacije ulja iz maslinovog tijesta.

Cilj operacije miješenja je u što većoj mjeri razbiti emulziju i omogućiti spajanje malih kapljica ulja u veće, time se postiže bolje odvajanje uljne od vodene faze.

Miješenje je operacija u procesu prerade maslina koja u najvećoj mjeri određuje pozitivna ili negativna svojstva ulja. Za kakvoću ulja je najbitnije što se tijekom miješenja događa s pigmentima, triacilglicerolima i masnim kiselinama, fenolnim tvarima i enzimima. (Koprivnjak, 2006).

Tijekom miješenja enzimi sadržani u plodu masline, pektolitički i hemicelulolitički enzimi razgrađuju stanične stijenke i ovojnice vakuola, čime se olakšava oslobađanje ulja i drugih tvari sadržanih u stanici, unutar vakuola ili na staničnim stijenkama. Na triacilglicerole tijekom miješenja djeluju lipaze koje cijepaju estersku vezu te se oslobađaju glicerol i

slobodne masne kiseline. Lipoksigenaza i hidroperoksidliaza su ključni enzimi za nastajanje arome ulja.

Na fenolne spojeve djeluju glukozidaze, polifenoloksidaze i peroksidaze. Glukozidaze prevode fenolne glukozide u aglikone, a aktiviraju se već u trenutku razaranja stanične strukture. Peroksidaze kataliziraju oksidaciju nezasićenih masnih kiselina što dovodi do nepoželjnih reakcija oksidacijskog kvarenja ulja. Polifenoloksidaze oksidiraju fenolne tvari, pri čemu se one razgrađuju i gube senzorska i antioksidacijska svojstva.

### **2.4.3. Izdvajanje ulja iz maslinovog tijesta**

Postupci izdvajanja ulja ili uljnog mošta iz maslinovog tijesta temelje se na jednom od sljedeća tri principa: primjeni sile pritiska (kod prešanja), razlici u gustoći ulja, vode i krutih čestica (kod centrifugiranja) te razlici u površinskoj napetosti ovih triju komponenti (kod procjeđivanja) (Koprivnjak, 2006).

Prešanje je jedna od najstarijih metoda izdvajanja ulja iz maslinovog tijesta. Izvodi se na hidrauličkim prešama koje se temelje na principu Pascalovog zakona (pomoću malih sila mogu se dobiti veliki pritisci). Prešanjem se iz maslinovog ulja izdvaja tzv. uljni mošt, tj. mješavina ulja i biljne vode. Sloj maslinovog tijesta debljine oko 3 cm premazuje se preko filtrirajućih slojnica sačinjenih od biljnih ili sintetičkih vlakana. Filtrirajuće slojnice zadržavaju dijelove maslinovog tijesta i ulja, moguće je prenošenje neugodnih mirisa i okusa, zatim dolazi do oksidacije i fermentacije te su kritična točka kod proizvodnje maslinovog ulja prešanjem. Da bi se spriječilo prenošenje neugodnih mirisa i okusa te fermentacija i oksidacija ulja potrebno je često pranje te zamjena filtrirajućih slojnica tijekom sezone. Nakon dovršenog prešanja, slojnice se ručno ili strojno odvajaju od komine, eventualno peru i vraćaju u proces. Iskorištenje ulja kod prešanja je oko 85-90% (Koprivnjak, 2006).

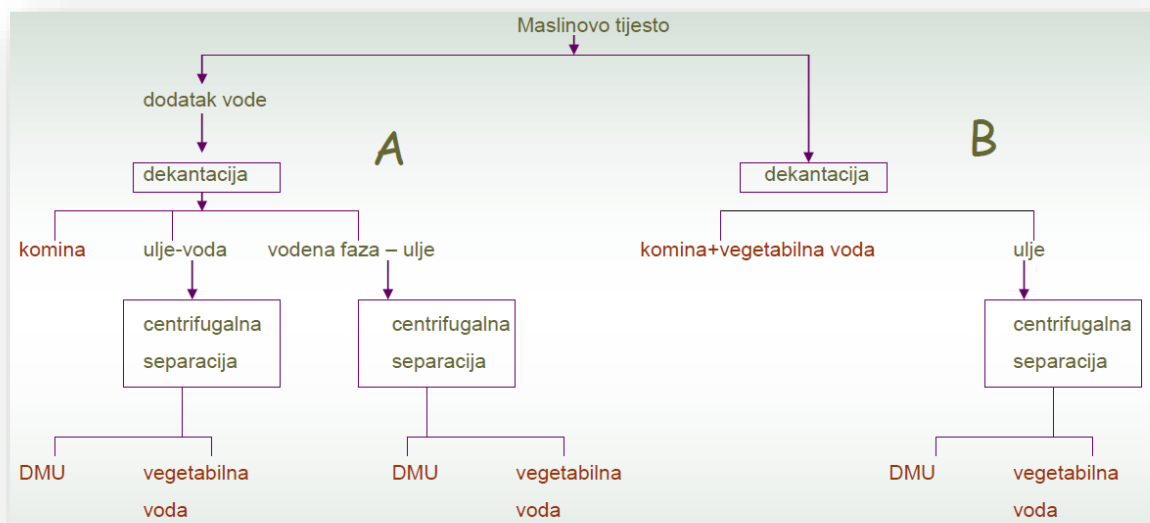
Za kontinuiranu centrifugalnu ekstrakciju koriste se horizontalni separatori ili dekanteri. Centrifugiranje je izlučivanje tekućeg od čvrstog dijela tijesta uz pomoć centrifugalne sile, zahvaljujući razlikama specifične težine između komine, biljne vode i ulja (slika 6).

Kruti djelići tijesta imaju najveću gustoću pa pod djelovanjem centrifugalne sile stvaraju sloj neposredno uz unutarnju stijenku bubnja. Ulje je najmanje gustoće pa se zadržava u središnjem dijelu centrifuge, dok se biljna voda raspoređuje između ulja i sloja krutih djelića. Različiti centrifugalni dekanteri koji se upotrebljavaju u procesu prerade maslina utječu na prinose ulja, kvalitativne karakteristike kao što su ukupni fenoli te sastav hlapljivih spojeva kao što su aldehidi, alkoholi, esteri, ugljikovodici, ketoni, furani i drugi spojevi koji su odgovorni za jedinstveni okus maslinovog ulja (Di Giovacchino i sur., 2002).

Postoje tri osnovna tipa centrifuga:

- klasična centrifuga s 3 izlaza

- integralna centrifuga s dva izlaza
- opcijske centrifuge s 2 ili 3 izlaza



**Slika 6.** Blok shema procesa proizvodnje maslinovog ulja kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom u tri faze (A) i u dvije faze (B) (Škevin,2016)

Procjeđivanje je metoda koja se temelji na razlici površinske napetosti i svojstvima adhezije ulja i vegetabilne vode. Uređaji se sastoje od korita s maslinovim tijestom koje se neprestano miješa te od tankih pločica od nehrđajućeg čelika koje se ritmički uranjaju u maslinovo tijesto pri dnu korita. Kapljice ulja se sakupljaju ispod prvog korita, a sam proces traje svega 30 min. Time se procjedi 60 - 70% ulja iz tijesta masline (Koprivnjak, 2006).

#### 2.4.4. Odvajanje ulja od biljne vegetabilne vode

Odvajanje ulja od biljne vegetabilne vode provodi se u vertikalnim centrifugama koje vrše razdvajanje na temelju različitih gustoća tekućina. Vertikalna centrifuga se sastoji od niza konusnih diskova postavljenih jedan pored drugoga koje rade pri 6500-7000 o min<sup>-1</sup>. Ulje, koje je manje gustoće, kreće se prema osi vrtnje, dok se biljna voda i krute čestice kreću prema perifernom dijelu centrifuge. Izdvajanje biljne vode može se pospješiti dodavanjem tople vode pri ulasku uljnog mošta u vertikalnu centrifugu, u omjeru 1:1 obzirom na volumen. Ovaj dodatak, međutim, smanjuje koncentraciju fenolnih tvari, gorčinu i vrijeme indukcije ulja (Koprivnjak, 2006).

#### 2.4.5. Bistrenje ulja

Svježe dobiveno ulje nakon proizvodnje je mutno. Mutnoću maslinovog ulja stvaraju komadići biljnog tkiva u suspenziji, kapljice biljne vode i voskova otopljenih u ulju. Te se

čestice nisu uspjele odvojiti centrifugiranjem, a mogu narušiti kvalitetu i prihvatljivost proizvoda tijekom čuvanja. Zato se mora provesti bistrenje ulja, prije punjenja u boce.

Bistrenje je moguće ostvariti prirodnim putem ili filtriranjem.

Prirodno bistrenje se odvija taloženjem, a nastali talog je potrebno ukloniti pretakanjem u više navrata jer sadrži anaerobne mikroorganizme, enzime, šećere i proteine što može dovesti do pojave mirisa na trulež (uljni talog). Drugi način uklanjanja nečistoća iz ulja je filtriranje (slika 7) pomoću dijatomejske zemlje, metalnih, teflonskih ili celuloznih filtara. Manje količine ulja mogu se profiltrirati pomoću celulozne vate dok veće količine uz pomoć filtarskih preša s odgovarajućim filterima (Koprivnjak, 2006).



**Slika 7.** Filtracija – lijevo nefiltrirano ulje (uljni mošt), desno filtrirano ulje (vlastita fotografija)

#### **2.4.6. Skladištenje ulja**

Tijekom skladištenja ulje treba zaštititi od kontakta sa zrakom, svjetla, topline, vlage, ali i od mirisa i onečišćenja iz okoline jer svi ti čimbenici mogu dovesti do kvarenja bilo to hidrolitičko ili oksidacijsko kvarenje. Stoga je skladištenju ulja potrebno posvetiti veliku pažnju kako bi što duže sačuvalo one karakteristike koje je imalo po izlazu iz separatora (Žanetić, 2005). Prostor u kojem se skladišti ulje morao bi biti hladan, prozračan, taman i suh, idealna temperatura za čuvanje je između 14 i 15°C. Materijal spremnika može biti metal, staklo i plastika te trebaju biti fizikalno i kemijski inertni naspram ulja da se izbjegne negativno zadržavanje okusa i mirisa u ulju.

### **2.5. Kemijski sastav maslinovog ulja**

Djevičansko maslinovo ulje može se podijeliti na dvije frakcije, osapunjivu i neosapunjivu frakciju. Osapunjiva frakcija čini do 95% ulja i u nju spadaju triacilgliceroli, mono- i digliceroli, slobodne masne kiseline, fosfolipidi i dr. Neosapunjiva frakcija sastoji se od fenolnih spojeva, ugljikovodika, sterola, tokoferola, triterpena, pigmenata i drugih komponenti koji čine ostalih 5% u ulju.

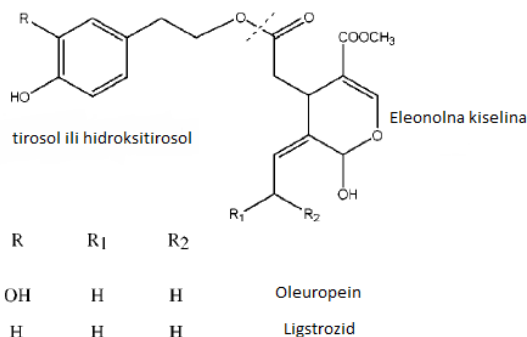
Sastav triacilglicerola djevičanskih maslinovih ulja ovisi o ukupnom sadržaju masnih kiselina u ulju (Santinelli i sur., 1992; Vlahov, 2005). Oleinska masna kiselina je



najzastupljenija masna kiselina u djevičanskom maslinovom ulju u udjelu od 55 do 83 %, a tako visok udio značajno utječe na povećanu stabilnost ulja (Koprivnjak, 2006). Osim oleinske masne kiseline manji udio imaju zasićene masne kiseline, palmitinska i stearinska te višestruko nezasićene masne kiseline linolna i  $\alpha$ -linolenska, koje kao esencijalne masne kiseline daju posebno biološko značenje maslinovom ulju. Prisustvo mono- i diglicerida u maslinovom ulju može se pripisati ili nepotpunoj biosintezi triacilglicerola ili hidrolitičkim reakcijama. U djevičanskom maslinovom ulju, udio diacilglicerola (DG) iznosi 1-2,8% (Frega i sur., 1993; Kiosseoglou i Kouzounas, 1993). Monoacilgliceroli prisutni su u mnogo manjim udjelima (manje od 0,25%) gdje je veći udio onih koji sadrže jednu masnu kiselinu na položaju 1 od onih koji ju sadrže na položaju 2 (Paganuzzi, 1987; Paganuzzi, 1999).

U negliceridnom dijelu osobito se ističu fenolni spojevi koji su prirodni antioksidansi djevičanskog maslinovog ulja i najzaslužniji su za njegovu oksidacijsku stabilnost. Fenolni spojevi su pretežno hidrofilnog karaktera, djelomično se otapaju i u kapljicama ulja s kojim dolaze u kontakt prilikom razaranja stanične strukture (Škevin, 2016). U fenolne spojeve ubrajaju se flavonoidi, sekoiridoidi, fenolne kiseline i alkoholi te lignani. Njihov udjel ovisi o sorti, stupnju zrelosti ploda, čuvanju ploda prije prerade, preradi i skladištenju gotovog ulja.

Od fenolnih spojeva u djevičanskom maslinovom ulju najznačajniji su sekoiridoidi koji su karakteristični samo za porodicu biljaka *Oleaceae* (jorgovan, maslina, jasmin). Sadrže eleonolnu kiselinu ili njezine derivate, a najzastupljeniji sekoiridoidi u djevičanskom maslinovom ulju su glukozidi oleuropein i ligstrozid (slika 8). Uloga sekoiridoida u plodu masline je zaštita od razvoja mikroorganizama na mjestu oštećenja ploda, te odbijanje nametnika i biljojeda (Škevin, 2016). Kritični procesi u preradi su mljevenje i miješenje tijekom kojih sekoiridoidi pod djelovanjem hidrolitičkih enzima gube molekulu šećera i prelaze u 9 aglikone, zahvaljujući tome postaju manje hidrofilni i stoga djelomično topivi u ulju. Bolji je prijelaz kod separacije ulja prešanjem i centrifugalnom ekstrakcijom u dvije faze, jer centrifugalna ekstrakcija u tri faze iziskuje dodatak vode koja 'ispire' fenole iz tijesta (Quiles i sur. 2006).



**Slika 8.** Kemijska struktura oleuropeina i ligstrozida (Tripoli i sur., 2005)

## 2.6. Kvaliteta maslinovog ulja

Za kakvoću ekstra djevičanskog maslinovog ulja važne su promjene koje nastaju na triacilglicerolima i masnim kiselinama, te na fenolnim hlapivim tvarima, koje određuju poželjna ili nepoželjna okusna ili mirisna svojstva (Koprivnjak, 2006). Dva primarna procesa koja narušavaju kakvoću maslinovog ulja su hidroliza triacilglicerola i oksidacija ulja (Kiritsakis, 1990).

Udio slobodnih masnih kiselina koje nastaju hidrolizom triacilglicerola glavni su pokazatelj hidrolitičkog kvarenja u ulju. Molekula triacilglicerola uz prisustvo vode u ulju i uz povoljne uvjete za povećanje aktivnosti lipolitičkih enzima razgrađuje se na diacilglicerol, monoacilglicerol te na kraju na glicerol i slobodne masne kiseline. Povišeni udio slobodnih masnih kiselina u ulju je nepoželjan, budući da one potiču prelazak iona metala s metalnih dijelova strojeva u ulje, smanjuju oksidacijsku stabilnost ulja, te sa svojom slobodnom karboksilnom skupinom ubrzavaju razgradnju hidroperoksida. Posljedica porasta njihove koncentracije očituje se u većoj trpkosti, te manjoj gorčini i pikantnosti ulja. Za djevičanska maslinova ulja koja se stavljaju na tržište, maksimalna dozvoljena vrijednost slobodnih masnih kiselina je 2,0% (za ekstra djevičansko 0,8%), ulja s većim vrijednostima smatraju se neprikladnima za ljudsku upotrebu i potrebno ih je rafinirati (Koprivnjak, 2006).

Oksidacija ulja odvija se na nezasićenim masnim kiselinama. Glavni supstrati u djevičanskim maslinovim uljima su mononezasićena oleinska kiselina (55-83%) i dvostruko nezasićena linolna (3,5-21%), dok trostruko nezasićene linolenske ima manje od 1%. Oksidaciju ulja potiču prooksidansi. Najznačajniji prooksidansi je kisik koji se nalazi u prostoru iznad ulja (u boci ili spremniku), a može se i umiješati u ulje u postupku proizvodnje. Ne postoji način potpunog uklanjanja kisika, ali se oksidacija može usporiti pakiranjem ulja u struji inertnog plina. Osim kisika, značajni prooksidansi su i temperatura (povećanje temperature ubrzava sve reakcije pa tako i oksidaciju), metali (osobito bakar i željezo), svjetlo i enzimi (Škevin, 2016).

Tijekom oksidacije dolazi do vezanja kisika na nezasićene veze nezasićenih masnih kiselina pri čemu nastaju primarni produkti oksidacije, peroksidi, hidroperoksidi i slobodni radikali masnih kiselina. Nastali primarni produkti djeluju kao katalizatori oksidacije te se takvo kvarenje naziva autooksidacija. U daljnjem tijeku autooksidacije formiraju se sekundarni produkti oksidacije koji uključuju aldehide, ketone, alkohole, masne kiseline, oksid masne kiseline, epoksidge. Reakcija autooksidacije završava formiranjem kompleksa slobodnih radikala koji u tom obliku više ne djeluju na njezino daljnje ubrzavanje. Postoji i fotooksidacija koja nastaje pobuđivanjem molekule kisika uz fotosenzibilizator (klorofil) te se kisik veže na nezasićene veze masnih kiselina i uzrokuje formiranje primarnih pa sekundarnih produkata.



Stupanj oksidacijskog kvarenja pokazuju primarni i sekundarni produkti kvarenja. Određuje se standardnom titrimetrijskom metodom, a izražava se kao peroksidni broj (PB) u milimolima kisika po kilogramu ulja. Sekundarni produkti kvarenja određuju se spektrofotometrijskom metodom određivanja specifičnih apsorbancija u UV području (tj.  $K_{232}$ ,  $K_{270}$  i  $\Delta K$  odnosno K-brojevi).

### **3.EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Materijali

Plodovi maslina koji su korišteni kao materijal su iz maslinika s otoka Vira. Berba plodova provedena je u 2 roka berbe (20.10.2017. i 4.11.2017.). U tablici 1 nalazi se opis uzoraka maslina u 2 roka berbe. Masline su se koristile za proizvodnju djevičanskog maslinovog ulja te su se ta ulja koristila za daljnju analizu.

Nakon berbe, masline su se čuvale do prerade u vrećama manje od 24 sata. Proizvedena su kontinuiranom centrifugalnom ekstrakcijom s 3 izlaza te su skladištena u bocama od tamnog stakla.

**Tablica 1.** Opis uzoraka

Uzorak	Opis
Masline 1	Masline sorte Oblica, Leccino, Lastovka, Pendolino, Istarska bjelica i Frantoio pobrane 20.10.2017.
Masline 2	Masline sorte Leccino, Lastovka, Pendolino, Istarska bjelica i Frantoio pobrane 4.11.2017.
Ulje 1	Ulje proizvedeno iz maslina 1
Ulje 2	Ulje proizvedeno iz maslina 2

### 3.2. Metode

#### 3.2.1. Određivanje indeksa zrelosti

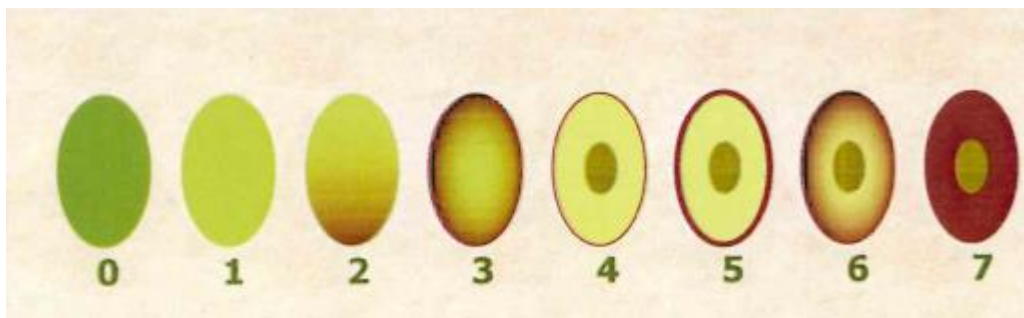
Indeks zrelosti je određen prema modificiranoj metodi međunarodnog vijeća za masline (IOC, 2011).

Plodovi maslina se nasumično poberu s vanjskog dijela krošnje u visini očiju. Odvoji se 100 plodova i podijeli u 8 kategorija na osnovu boje epikarpa (pokožice) i mezokarpa (pulpe) (slika 9). Svaka kategorija ima određeni broj bodova.

- 0 - epikarp intenzivno zelene boje
- 1 - epikarp žućkasto-zelene boje
- 2 - epikarp zelene boje sa crvenkasto-modrim sjajem na krajnjem dijelu ploda pokrivajući  $\frac{1}{4}$  površine ploda (početak pigmentacije ploda)
- 3 - epikarp crvenkaste ili tamno crvene boje na više od polovice površine ploda (završetak pigmentacije ploda)
- 4 - epikarp crne boje i mezokarp svijetle boje
- 5 - epikarp crne boje i pulpa na manje od polovice dubine tamne boje

6 - epikarp crne boje i pulpa na više od polovice dubine tamne boje, ali ne i do endokarpa (koštice)

7 - epikarp crne boje i pulpa tamne boje do endokarpa



**Slika 9.** Kategorije na osnovu boje epikarpa i mezokarpa (Olive your favourites, 2010)

Indeks zrelosti izračunava se prema jednadžbi [1]:

$$\text{Indeks zrelosti} = \frac{(A \cdot 0 + B \cdot 1 + C \cdot 2 + D \cdot 3 + E \cdot 4 + F \cdot 5 + G \cdot 6 + H \cdot 7)}{100} \quad [1]$$

Slova A-H predstavljaju broj plodova u svakoj od 8 kategorija

Uzorak od 100 plodova maslina koristi se za daljnje određivanje udjela vode i ulja plodu masline.

### 3.2.2. Određivanje udjela vode u plodovima maslina

Udio vode određuje se prema modificiranoj HRN EN ISO (665:2004) metodi.

Uzorak plodova maslina zdrobi se u tarioniku od mesinga s tučkom. U prethodno izvaganoj Petrijevoj zdjelici s 20 g kvarcnog pijeska, na analitičkoj vagi izvaže se oko 20 g homogene smjese uzorka. Uzorak se suši u sušioniku na 80 °C 24 sata zatim na 103 °C 24 sata, ohladi se u eksikatoru na sobnu temperaturu te se izvaže. Nakon toga je postupak sušenja pri 103 °C po sat vremena, hlađenja na sobnu temperaturu i vaganja ponavljan je sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja nije bio manji od 0,005 g.

Udio vode u uzorku izračuna se prema formuli [2]:

$$\text{Udio vode u uzorku} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100 \quad [2]$$

Gdje je:

$m_0$  – masa petrijeve zdjelice s kvarcnim pijeskom

$m_1$  - masa petrijeve zdjelice s kvarcnim pijeskom i homogenom smjesom uzorka prije sušenja

$m_2$  - masa petrijeve zdjelice s kvarcnim pijeskom i homogenom smjesom uzorka nakon sušenja

### 3.2.3. Određivanje udjela ulja u plodovima maslina

Udio ulja određuje se prema standardnoj HRN EN ISO 659:2010 metodi.

U tarioniku se dodatno usitni suhi uzorak maslina koji se koristio za određivanja udjela vode. Uzorak se prebaci u čahuru, a čahura se zatvori vatom i stavi u ekstraktor po Soxhletu koji se zatim spoji s hladilom i izvaganom tikvicom po Soxhletu u koju je stavljeno nekoliko kuglica za vrenje. Kao otapalo koristio se petroleter. Ekstrakcija se provodila 8 sati. Nakon 8 sati, većina otapala je otparena a tikvica s uzorkom osušena je 1 sat na 103 °C, ohlađena u eksikatoru na sobnu temperaturu te izvagana. Postupak sušenja pri 103 °C po pola sata, hlađenja i vaganja ponavljan je sve dok gubitak mase između dva uzastopna mjerenja nije bio manji od 0,005 g.

Udio ulja u uzorku i udio ulja na suhu tvar izračuna se po formulama [3] i [4]:

$$\text{Udio ulja} = \frac{\text{masa ekstrahiranog ulja}}{\text{masa paste uzete za sušenje}} \quad [3]$$

$$\text{Udio ulja na suhu tvar} = \frac{\text{masa ekstrahiranog ulja}}{\text{masa suhog uzorka}} \quad [4]$$

Gdje je:

masa ekstrahiranog ulja = masa tikvice s uzorkom nakon ekstrakcije – masa prazne tikvice

masa paste uzete za sušenje – vidi formulu [2]

masa suhog uzorka =  $m_2 - m_0$  (vidi formulu [2])

### 3.2.4. Određivanje udjela slobodnih masnih kiselina

Udio slobodnih masnih kiselina određuje se prema standardnoj HRN EN ISO 660:2010 metodi.

20 g uzorka ulja odvaže se na vagi u Erlenmeyerovu tikvicu. Uzorak se otopi u 50 ml prethodno neutralizirane smjese dietil etera i etanola (1:1). Titrira se otopinom natrij hidroksida koncentracije (0,1 mol L<sup>-1</sup>) uz fenolftalein kao indikator (ružičasta boja fenolftaleina zadržava se najmanje 10 sekundi). Analiza se provodila se u dvije paralele.

Udio slobodnih masnih kiselina, izražen kao postotak oleinske kiseline, koja je dominantna u djevičanskom maslinovom ulju računa se po formuli [5].

$$SMK (\% \text{ oleinske}) = \frac{V \cdot c \cdot M}{10 \cdot m} \quad [5]$$

Gdje je:

V= volumen standardizirane otopine natrijeva hidroksida upotrebljenutrošen pri titraciji (mL)

c= točna koncentracija standardizirane otopine kalij natrijeva hidroksida ( $\text{mol L}^{-1}$ )

M= 282 molarna masa, u  $\text{g mol}^{-1}$ , molarna masa oleinske masne kiseline koja se koristi za izražavanje rezultata (oleinska= $282 \text{ g mol}^{-1}$ )

m= masa uzorka (g)

### 3.2.5. Određivanje peroksidnog broja

Peroksidni broj određuje se prema standardnoj HRN EN ISO metodi (3960:2017).

U tikvicu se izvaže oko 5 g uzorka. Uzorak ulja se otopi u 50 mL smjese izooktana i octene kiseline (2/3), doda se 0,5 ml zasićene otopine kalijeva jodida, tikvica se brzo začepi i miješa točno 1 minutu ( $\pm 1$  sek). Reakcija se prekida dodatkom 100 ml vode. Doda se 0,5 mL otopine škroba i titrira se otopinom natrijeva tiosulfata uz snažno miješanje. Prije analize uzorka potrebno je odrediti utrošak natrijeva tiosulfata za slijepu probu.

Peroksidni broj izražava se u milimolima aktivnog kisika po kilogramu, a izračunava se prema izrazu [6]:

$$PB = \frac{(V_1 - V_0) \cdot 5}{m} \quad [6]$$

Gdje je:

$V_1$ = volumen standardizirane otopine natrij tiosulfata ( $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) utrošen za titraciju uzorka (mL)

$V_0$ = volumen standardizirane otopine natrij tiosulfata utrošen za titraciju slijepe probe (mL)

m= masa uzorka ulja (g)

### 3.2.6. Spektrofotometrijska analiza u ultraljubičastom području

Uzorak smo pripremili i analizirali metodom propisanom hrvatskom normom za određivanje apsorbancije u ultraljubičastom spektru izraženih kao specifična UV ekstinkcija koja se koristi za životinjske i biljne masti i ulja (HRN EN ISO 3656:2011).

Od pripremljenog homogenog uzorka, bez nečistoća odvaže se 0,1 g u odmjernu tikvicu od 10 ml. Tikvica se zatim do oznake napuni s izooktanom spektrofotometrijske čistoće, koji se odlikuje propusnošću emitiranog zračenja od najmanje 60% pri 220 nm te najmanje 95% pri 250 nm u odnosu na destiliranu vodu. S priređenom otopinom napuni se kvarcna kiveta s duljinom prolaza zrake 1 cm te se mjere ekstinkcije pri valnim duljinama od 232 nm do 276 nm.

Koeficijenti ekstinkcije pri raznim valnim duljinama računaju se prema izrazu [7]:

$$K_\lambda = \frac{E_\lambda}{c \cdot s} \quad [7]$$

Gdje je :

$K_\lambda$ -specifična ekstinkcija pri valnoj duljini  $\lambda$

$E_\lambda$ -izmjerena ekstinkcija pri valnoj duljini  $\lambda$

c- koncentracija otopine u g/100ml

s- duljina puta zrake u cm

Izračunavanje vrijednosti  $\Delta K$  provodi se prema izrazu [8] :

$$\Delta K = K_m - \frac{K_{m-4} - K_{m+4}}{2} \quad [8]$$

Gdje je:

$K_m$ -specifična ekstinkcija pri valnoj duljini m tj. valnoj duljini oko 270( $\pm 2$ ) nm na kojoj je zabilježena max. apsorbanacija

### 3.2.7. Određivanje polifenola HPLC metodom uz UV detekciju

Polifenoli su određeni prema modificiranoj metodi međunarodnog vijeća za masline (IOC, 2009). Metoda se temelji na direktnoj ekstrakciji polarnih spojeva u maslinovom ulju pomoću metanolne otopine i kvantifikaciji korištenjem HPLC-a uz UV detekciju. Sadržaj prirodnih i oksidiranih oleuropeina i derivata ligstrozida, lignana, flavonoid i fenolnih kiselina izražen je u mg tirosola  $\text{kg}^{-1}$  ulja.

U epruvetu od 10 ml doda se 4 g maslinovog ulja. U epruvetu se doda se 5 ml otopine metanol:voda 4:1 (V:V) te se otopina promiješa točno 1 minutu. Fenoli se ekstrahiraju u ultrazvučnoj kupelji pri sobnoj temperaturi kroz 15 minuta i zatim hidrofolni dio od ulja odvoji centrifugiranjem pri 5000  $\text{rpm}$  kroz 25 minuta. Alikvot supernatanta profiltrira se kroz 0,2  $\mu\text{m}$  PVDF filter i 5  $\mu\text{l}$  pripremljenog ekstrakta injektira se u HPLC sustav.

Određivanje fenolnih spojeva je provedeno na C18 nepolarnoj koloni (Kinetex 150 mm  $\times$  4,6 mm, 2,6  $\mu\text{m}$ , 100 Å, Phenomenex, Torrance, SAD) instaliranoj na Agilent Technologies HPLC 1200 Series sustav s binarnom pumpom, autosemplerom, DAD detektorom. Analiza je provedena pri 30°C, sa stalnim protokom otapala od 0,9  $\text{ml min}^{-1}$ . Za razdvajanje fenolnih spojeva korištena je gradijentna kromatografija prema elucijskom gradijentu prikazanom u tablici 2.

**Tablica 2.** Elucijski gradijent za određivanje polifenola:

Vrijeme (min)	Volumni udio otopine A (%)	Volumni udio otopine B (%)
0	90	10
3	90	10
15	50	50
20	40	60
25	0	100
26	0	100

26,1	90	10
30	90	10

Otopina A – 0,1% mravlja kiselina u vodi; otopina B – 0,1% mravlja kiselina u metanolu

Kromatogrami fenolnih spojeva snimljeni su na 280, a kroz cijelo vrijeme trajanja analize snimani su spektri u ultraljubičastom djelu spektra (od 200 do 400 nm). Spektri komercijalno dostupnih standarada fenolnih spojeva (galna kiselina, hidroksitirozol, protokatehinska kiselina, tirozol, 4-hidroksibenzojeva kiselina, vanilinska kiselina, siringinska kiselina, vanilin, *p*-kumarinska kiselina, sinapinska kiselina, *trans*-cimetna kiselina, klorogenska kiselina, kavaska kiselina, siringaldehid, ferulinska kiselina, oleuropein, kvercetin i pinoresinol) korišteni su za izradu interne knjižnice. Identifikacija fenolnih spojeva maslinovog ulja provedena je usporedbom njihovih vremena zadržavanja s vremenima zadržavanja korištenih standarada, te usporedbom njihovih spektara s onima iz knjižnice.

Površina ispod pika predstavlja koncentraciju određenog spoja, pomoću jednadžbe pravca tirokola izračuna se koncentracija u otopini, a koncentracija u uzorku izračuna se pomoću formule:

$$c_{uz} = \frac{c_{ot} \cdot V}{m} \quad [9]$$

Gdje je:

$c_{uz}$  – koncentracija u uzorku (mg/kg)

$c_{ot}$  – koncentracija u otopini (μg/mL)

V – volumen uzorka (mL)

m – masa uzorka (g)



## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

Cilj ovog rada bio je odrediti utječe li zrelost ploda maslina na osnovne parametre kvalitete i na udjel polifenolnih spojeva. Plodovi su brani u 2 roka berbe, 20.10.2017. i 4.11.2017. te im se odredio indeks zrelosti na osnovu pigmentacije epikarpa i mezokarpa.

Indeks zrelosti jedan je od važnih parametara za utvrđivanje početka berbe maslina jer akumulacija masnih kiselina raste sa zrelošću i time utječe na prinos ulja.

**Tablica 3.** Osnovni parametri kvalitete plodova maslina

Uzorak	Masline 1	Masline 2
Indeks zrelosti	2,55	3,35
Iskorištenje u uljari (%)	8,13	9,89
Udio vode (%)	67,28	59,79
Udio ulja (%)	14,57	17,37
Udio ulja na suhu tvar	44,55	43,21

Iz tablice 3 koja prikazuje osnovne parametre kvalitete plodova maslina može se vidjeti da je indeks zrelosti maslina 1 bio 2,55, a tek 14 dana nakon iznosio je 3,35. Indeks zrelosti se vremenski povećava što su i istraživali Dag i suradnici (2011). Oni su istraživali poveznicu između datuma berbe, indeksa zrelosti i kvalitete ulja na dvije sorte iz Izraela, tradicionalnoj "Souri" sorti i modernoj "Barnea" sorti. Tijekom procesa dozrijevanja antocijanini se akumuliraju u plodu i količina ulja je u porastu što se vidi u tablici 3. Udio ulja u maslinama 1 je za 16% manji od maslina 2 pa je time i iskorištenje u uljari manje u prvom roku berbe. Zbog akumulacije antocijanina na kraju procesa dozrijevanja plodovi postaju ljubičasti do purpuni. Boja ploda služi kao pokazatelj stupnja zrelosti. Navedeno istraživanje je pokazalo da vremenskim napredovanjem sezone berbe u oba kultivara dolazi do linearnog i značajnog porasta indeksa zrelosti.

Udio vode u plodovima važan je faktor za kvalitetu ulja. Ako se udio vode u plodu smanji do takve razine da dođe do isušivanja, može doći do razgradnje stanice što dovodi do povećanja slobodnih masnih kiselina, a time i manje kvalitete ulja (Mailer i sur.,2005).

**Tablica 4.** Osnovni parametri kvalitete djevičanskog maslinovog ulja

Uzorak		Ulje 1	Ulje 2
Udio SMK (% oleinske)		0,17	0,13
Peroksidni broj (mmol O <sub>2</sub> kg <sup>-1</sup> )		2,67	2,39
	K <sub>232</sub>	1,72	1,51

K-brojevi	K <sub>270</sub>	0,11	0,10
	ΔK	-0,002	-0,001

Udjel slobodnih masnih kiselina pokazatelj je hidrolitičkog kvarenja ulja djelovanjem lipolitičkih enzima uz prisustvo vode i indirektan je pokazatelj zdravstvene ispravnosti ploda koji služi kao sirovina za proizvodnju ulja. Do oslobađanja slobodnih masnih kiselina može doći u samom plodu ili prilikom oštećenja ploda kada ulje oslobođeno iz vakuola dolazi u kontakt s lipolitičkim enzimima. Što je oštećenje ploda bilo veće i što je duže vremena prošlo od oštećenja ploda od ekstrakcije ulja, to se očekuju veće vrijednosti SMK. Slobodne masne kiseline ne utječu negativno na ljudsko zdravlje, no ukoliko je povećan njihov udjel, dolazi do povećanja viskoznosti ulja, a moguće je i smanjivanje oksidacijske stabilnosti jer slobodne masne kiseline imaju prooksidacijsko djelovanje (Škevin, 2016).

Prema Uredbi Komisije (EEZ) br. 2568/91 o karakteristikama maslinovog ulja i ulja komine maslina te o odgovarajućim metodama analize, udio slobodnih masnih kiselina mora biti  $\leq 0,8$ , za ekstra djevičansko maslinovo ulje, tj.  $\leq 2,0$  za djevičansko maslinovo ulje. U analiziranim uljima udjeli slobodnih masnih kiselina su manji od 0,8 izraženi kao % oleinske masne kiseline što prikazuje tablica 4 te ih se može svrstati u kategoriju ekstra djevičansko maslinovo ulja.

Osim udjela slobodnih masnih kiselina, tablica 4 pokazuje i ostale osnovne parametre kvalitete djevičanskog maslinovog ulja koji su pokazatelji oksidacijskog kvarenja, a to su peroksidni broj i K brojevi. Peroksidni broj pokazuje primarne produkte oksidacijskog kvarenja, a može se povećati uslijed neodgovarajućeg skladištenja ulja kada je ulje izloženo kisiku iz zraka, svjetlosti, toplini i tvarima s prooksidacijskim djelovanjem. Peroksidni broj za ekstra djevičansko maslinovo ulje prema Uredbi Komisije (EEZ) br. 2568/91 mora iznositi  $\leq 10 \text{ mmol O}_2 \text{ kg}^{-1}$  ulja. Peroksidni brojevi analiziranih ulja iznosili su 2,67 i 2,39  $\text{mmol O}_2 \text{ kg}^{-1}$  ulja čime se zadovoljava kriterij za kategoriju ekstra djevičansko maslinovo ulje.

K-brojevi se određuju spektrofotometrijskom analizom u UV području i definiraju kakvoću ulja, očuvanost ulja i moguće promjene nastale u ulju kao posljedica tehnološkog postupka. Oksidacijom polinezasićenih masnih kiselina u ulju nastaju konjugirane veze koje imaju maksimume apsorbancije u ultraljubičastom području. Tako konjugirani dieni i konjugirani hidroperoksidi imaju maksimum apsorbancije na 232 nm, a konjugirani trieni i sekundarni produkti oksidacije povećavaju apsorbanciju na 270 nm (Koprivnjak, 2006). Prema Uredbi Komisije (EEZ) br. 2568/91 za ekstra djevičansko maslinovo ulje vrijednosti moraju biti  $K_{232} \leq 2,50$ ,  $K_{270} \leq 0,22$  i  $\Delta K \leq 0,01$ , a analizirana ulja spadaju u kategoriju ekstra djevičanskog maslinovog ulja s obzirom da su vrijednosti K brojeva prikazani u tablici 4 niži od propisanih granica. Osnovni parametri kvalitete analiziranih ulja iz dva različita roka

berbe i pri različitim indeksima zrelosti su vrlo sličnih vrijednosti i ne pokazuju značajno odstupanje.

**Tablica 5.** Koncentracija fenolnih spojeva ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) u djevičanskom maslinovom ulju

Fenolni spoj	Koncentracija ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	
	Ulje 1	Ulje 2
Tirosol	$2,53 \pm 0,02$	$2,00 \pm 0,06$
Vanilin	$1,71 \pm 0,05$	$1,71 \pm 0,14$
Grupa sekoiridoida I	$79,89 \pm 0,60$	$49,76 \pm 1,58$
Grupa sekoiridoida II	$104,41 \pm 0,73$	$76,48 \pm 3,48$
Neidentificirani spojevi	$37,20 \pm 1,09$	$32,56 \pm 4,26$
Ukupno	$225,75 \pm 2,50$	$162,51 \pm 1,91$

Povećavanjem indeksa zrelosti u djevičanskom maslinovom ulju odvijaju se brojne promjene. Škevin i suradnici (2003) navode da s povećanjem indeksa zrelosti plodova iz sorti Bjelica, Buža i Leccino opada udio ukupnih fenolnih tvari i oksidacijska stabilnost ulja. Osim fenolnih spojeva, dozrijevanjem se mijenja i sastav tokoferola, masnih kiselina, sterola i pigmenata. U kojoj mjeri se takve promjene odvijaju ovisi o različitim faktorima kao što su sorta, klimatski uvjeti, indeks zrelosti i uvjetima uzgoja, proizvodnje i skladištenja. U velikoj mjeri utječu na stupanj kvalitete proizvoda, oksidacijsku stabilnost i nutritivnu vrijednost proizvoda (Dag i sur., 2011).

Koncentracija ukupnih fenola, koju prikazuje tablica 5, u ulju dobivenom u prvom roku berbe iznosi  $225,75 \text{ mg kg}^{-1}$  dok koncentracija u ulju dobivenom u drugom roku berbe iznosi  $162,51 \text{ mg kg}^{-1}$  što je unutar uobičajenih vrijednosti koje se kreću između 100 i  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  (Boskou, 2006). U prvom roku berbe prevladavala je sorta Oblica dok je u drugom roku prevladavala sorta Leccino. Koncentracija ukupnih fenola u ulju iz prvog roka berbe je niža od koncentracije u sorti Oblica u istraživanju Žanetić i suradnika (2011). U sorti Oblica koncentracija ukupnih fenolnih spojeva kreće se između 263,75 do  $289,83 \text{ mg kg}^{-1}$ . S obzirom da su ulja dobivena iz više sorti maslina, a na ukupne fenole utječe puno različitih čimbenika od kojih je jedan i sorta maslina, može se objasniti niža koncentracija ukupnih fenolnih spojeva.

Razlika koncentracije pojedinih fenolnih spojeva nije značajna osim za grupu sekoiridoida I i II. Kritični procesi u preradi su mljevenje i miješenje tijekom kojih sekoiridoidi pod djelovanjem hidrolitičkih enzima gube molekulu šećera i prelaze u 9 aglikone,

zahvaljujući tome postaju manje hidrofilni i stoga djelomično topivi u ulju (Quiles i sur. 2006). Masline su prerađene centrifugalnom ekstrakcijom u tri faze koja iziskuje dodatak vode, a voda 'ispire' fenole iz tijesta (Quiles i sur., 2006). Svi ti čimbenici mogu objasniti manju koncentraciju grupe sekoiridoida I i II u analiziranom ulju iz drugog roka berbe.

## **5. ZAKLJUČAK**

Na temelju provedenog eksperimentalnog dijela te dobivenih i obrađenih rezultata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Indeks zrelosti raste tijekom zrenja maslina te utječe na udio ulja u plodovima maslina.
2. Indeks zrelosti nije značajno utjecao na osnovne parametre kvalitete ulja koji su pokazali da prilikom proizvodnje i skladištenja ulja nije došlo do značajnijeg hidrolitičkog ili oksidacijskog kvarenja ulja.
3. Indeks zrelosti značajno utječe na koncentraciju polifenola u u plodu masline. U ulju iz prvog roka berbe iznosi  $225,75 \text{ mg kg}^{-1}$  dok u ulju iz drugog roka berbe iznosi  $162,51 \text{ mg kg}^{-1}$ .

## **6. LITERATURA**



Boskou D (2006) Olive oil: Chemistry and technology, 2.izd., American Oil Chemists' Society. str. 79.

Dag A., Kerem Z., Yogev N., Zipori I., Lavee S., David E. B. (2011) Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae* 127: 358-366.

Di Giovacchino L., Sestili S., Di Vincenzo D. (2002) Influence of olive processing on virgin olive oil quality. *European Journal of Lipid Science and Technology* 104: str. 587–601.

EUR-Lex (2016) Uredba Komisije (EEZ) br. 2568/91 o karakteristikama maslinovog ulja i ulja komine maslina te o odgovarajućim metodama analize <<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/ALL/?uri=CELEX%3A31991R2568>> pristupljeno 10. veljače 2018.

Frega N., Bocci F., Lercker G. (1993) Free Fatty Acids and Diacylglycerols as Quality Parameters for Extra Virgin Olive Oil. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* **70**: 153-156.

HRN EN ISO 659:2010, Uljarice - Određivanje udjela ulja.

HRN EN ISO 660:2004, Uljarice - Određivanje količine vode i hlapljivih tvari.

HRN EN ISO 660:2010, Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje kiselinskog broja i kiselosti.

HRN EN ISO 3656:2011, Životinjske i biljne masti i ulja – Određivanje apsorbancija u ultraljubičastom spektru izraženih kao specifična UV ekstinkcija.

HRN EN ISO metodi 3960:2017, Životinjske i biljne masti i ulja - Određivanje peroksidnog broja.

International Olive Council (2009) COI/T.20/Doc.29 - Determination of biophenols in olive oils by HPLC

International Olive Council (2011) COI/OH/Doc. No 1 - Guide for the determination of the characteristics of oil-olives <<http://www.internationaloliveoil.org/estaticos/view/222-standards>> pristupljeno 10. veljače 2018.

Kiosseoglou V., Kouzounas P. (1993) The Role of Diglycerides, Monoglycerides and Free Fatty Acids in Olive Oil Minor Surface-active Lipid Interaction With Proteins at Oil-water Interface. *Journal of Dispersion Science and Technology* **14**: 527-531.

Kiritsakis A. K. (1990) Olive oil, 2. izd., American Oil Chemist Society. Str. 41-113.

Pribetić Đ. (2006) Sorte maslina u Istri, 1. izd., MIH

Koprivnjak O. (2006) Djevičansko maslinovo ulje od masline do stola, 1. izd., MIH. str. 59-130.

Luigigozzo (2009) Pendolino <<http://www.luigigozzo.it/piante/variet%C3%A0-da-olio/pendolino>> pristupljeno 25. svibnja 2018.

Mailer R., Conlan D., Ayton J. (2005) Olive Harvest: Harvest timing for optimal olive oil quality. *Rural Industries Research and Development Corporation* **103**: 1-67.

Olive your favourites (2010) Maturity indeks  
<<http://www.oliveyourfavourites.com/learnmore.php>> pristupljeno 10. veljače 2018.

Paganuzzi V. (1987) Monoglycerides in Vegetable Oils. Note I: Monoglycerides in Vegetable Oils. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* **64**: 411-414.

Paganuzzi V. (1999) Monoglycerides in Vegetable Oils. Note IV: Raw Oils of Low Unsaturation. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse* **76**: 457-471.

Quiles L. J., Ramirez-Tortosa C., Yaqoob P (2006) Olive oil and Health, 1. izd., CABI. str. 45-63.

Santinelli F., Damiani P., Christie W.W. (1992) The Triacylglycerol Structure of Olive Oil Determined by Silver Ion High Performance Liquid Chromatography in Combination With Stereospecific Analysis. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **69**: 552-556.

Strikić F., Čmelik Z., Šatović Z., Perica S. (2007) Morfološka raznolikost masline (*Olea europaea* L.) sorte Oblica. *Pomologia Croatica* **13**: 77-86.

Škarica B., Žužić I., Bonifačić M. (1996) Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj, 1.izd. Tipograf d.d. str. 196.

Škevin D., Rade D., Štrucelj D., Mokrovčak Ž., Neđeral S., Benčić Đ. (2003) The influence of olive variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology* **105**: 536-541.

Škevin, D. (2016) Interna skripta iz Kemija i tehnologija ulja i masti, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb.

Tripoli E., Giammanco M., Tabacchi G., Di Majo D., Giammanco S., La Guardia M. (2005) The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews* **18**: 98–112.

Udruga maslinara Vela Luka (2002) Lastovka <[http://www.velaluka.info/udruga-maslinara/sorte\\_maslina/lastovka.htm](http://www.velaluka.info/udruga-maslinara/sorte_maslina/lastovka.htm)> pristupljeno 25.svibnja 2018.

Vivaipacini (2011) Leccino <<https://www.vivaipacini.it/ecommerce/prodotto/leccino/>> pristupljeno 25.svibnja 2018.

Vlahov G. (2005) <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance spectroscopy to check 1, 3-random, 2-random pattern of fatty acid distribution in olive oil triacylglycerols. *Journal of Spectroscopy* **19**: 109-117.

Žanetić M., Gugić M. (2005) Čuvanje djevičanskog maslinovog ulja. *Pomologia Croatica* **11**: 31-41.

Žanetić, M. (2011) Ispitivanje fenolnih spojeva i senzorski profil dalmatinskih djevičanskih maslinovih ulja. *Pomologia Croatica* **17**: 19-30.

## Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Maja Rajčić  
Ime i prezime studenta